

corresponds to: US 5,761,977



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

①2 **Offenlegungsschrift**
①0 **DE 195 28 180 A 1**

⑤1 Int. Cl. 8:
G 01 N 1/06

②1 Aktenzeichen: 195 28 180.2
②2 Anmeldetag: 1. 8. 95
④3 Offenlegungstag: 6. 2. 97

DE 195 28 180 A 1

⑦1 Anmelder:
Microm Laborgeräte GmbH, 69190 Walldorf, DE

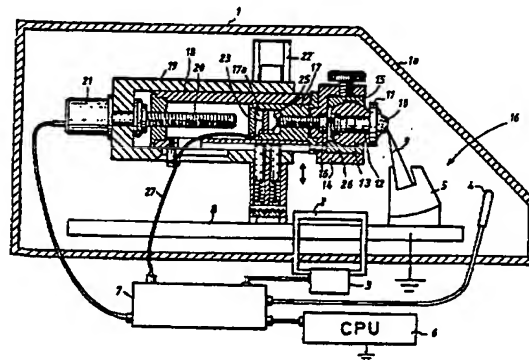
⑦2 Erfinder:
Niesporek, Christian, 69168 Wiesloch, DE; Heid,
Hans, 69245 Bammental, DE

⑤6 Entgegenhaltungen:
US 52 82 404

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Kryostat-Mikrotom

⑤7 Die Erfindung betrifft ein Kryostat-Mikrotom mit einer automatischen Präparatannäherung, die die Vorschubbewegung zwischen dem Mikrotom-Messer (9) und dem Präparat (10) auf einander zu bei einem mechanischen Kontakt zwischen Messer und Präparat selbsttätig stoppt. Zwischen dem Mikrotom-Messer (9) und dem Präparat (10) ist eine elektrische Spannung von einigen Volt angelegt. Ein aufgrund der Eigenleitfähigkeit des Präparates (10) bei mechanischem Kontakt zwischen dem Präparat (10) und dem Mikrotom-Messer (9) auftretender geringer Strom und der daraus resultierende geringere Spannungsabfall am Präparat (10) wird mittels eines als Impedanzwandler beschalteten Vorverstärkers stromverstärkt und nachfolgend gemessen, und die Vorschubbewegung zwischen dem Präparat (10) und dem Mikrotom-Messer (9) selbsttätig gestoppt, wenn am Verstärkerausgang eine vordefinierte Schwellspannung unterschritten wird. Die voreingestellte Schwellspannung ist temperaturabhängig und wird vom Steuerungsprozessor (8) entsprechend der Kryostat-Temperatur anhand einer Funktion und Funktionskoeffizienten berechnet. Durch die Temperaturabhängigkeit der Schwellspannung ist eine zuverlässige und präzise Präparatannäherung im gesamten Bereich der in der Kryo-Mikrotomie üblichen Temperaturen gewährleistet.



BEST AVAILABLE COPY

DE 195 28 180 A 1

Vor dem Anschneiden eines mit einem Mikrotom zu schneidenden Präparates oder vor dem ersten Anschneiden nach einem Ändern des Winkels zwischen dem Präparat und dem Mikrotom-Messer müssen das Präparat und das Messer zunächst relativ zueinander in die Anschnittstellung gebracht werden. Prinzipiell kann dazu der Zustellmechanismus des Mikrotoms genutzt werden, wenn ausgehend von einem relativ großen Abstand zwischen dem Präparat und dem Messer so häufig die Schneidbewegung mit einem anschließenden Vorschub zwischen Präparat und Messer entsprechend der eingestellten Schnittdicke ausgeführt wird, bis der erste Schnitt vom Präparat abgenommen wird. Da dieses Vorgehen jedoch für den Routineeinsatz zu zeitaufwendig ist, versucht die bedienende Person in der Praxis die Anschnittstellung mittels eines Schnellvorschubes zwischen Präparat und Mikrotom-Messer einzustellen. Die Genauigkeit dieser Einstellung und die dafür erforderliche Zeit ist jedoch von der Erfahrung und der Geschicklichkeit der bedienenden Person abhängig.

Um das Auffinden der Anschnittstellung zu automatisieren, ist in der US-A-3,667,330 vorgeschlagen worden, bei einem motorisch angetriebenen Zustellmechanismus Endschanter vorzusehen, bei deren Erreichen der Schnellvorschub zwischen Präparat und Mikrotom-Messer selbsttätig gestoppt wird. Nachteilig ist hier jedoch, daß der nach dem Stoppen der Zustellbewegung verbleibende Abstand zwischen dem Präparat und dem Mikrotom-Messer von der Abmessung des Präparates in Richtung auf das Mikrotom-Messer abhängt; bei Präparaten mit kleinen Abmessungen verbleibt ein relativ großer Abstand, während bei Präparaten mit sehr großen Abmessungen das Messer bereits relativ weit in das Präparat hineinragt und beim nachfolgenden Ausführen eines Schnittes das Präparat beschädigt werden kann.

Zur Lösung dieses Problems ist es aus der EP-A1-0544181 der Anmelderin bekannt, einen Endschanter vorzusehen, der durch Berührung der messerseitigen Präparatoberfläche mit einer Auslösefahne betätigt wird. Bei dieser Anordnung wird die Zustellbewegung gestoppt, bevor die messerseitige Präparatoberfläche die Ebene des Messers erreicht. Der verbleibende Restweg ist zwar für jede Winkelstellung konstant und kann daher als zusätzlicher Verfahrensweg einprogrammiert werden. Nach einer Änderung des Messerwinkels ist jedoch ein geändert er Restweg einzuprogrammieren bzw. auf einen anderen Restweg umzuschalten. Wird letzteres von Benutzer versäumt, so arbeitet die Präparatannäherung nicht zuverlässig.

In der DE-A1-35 00 596 ist ein Mikrotom beschrieben, bei dem zur Schnittdicken-Regulierung ein kapazitiver Abstands-Sensor vorgesehen ist, der durch das Präparat und das Mikrotom-Messer gebildet wird. Eine derartige Anordnung ist jedoch zum Stoppen des Vorschubes vor dem ersten Anschnitt — also zum Auffinden der Anschnittstellung — oder vor dem ersten Anschnitt nach einer Änderung des Winkels zwischen dem Mikrotom-Messer und dem Präparat nicht geeignet, da sich durch die unterschiedlichen Winkel zwischen der Präparat-Oberfläche und dem Messer, oder durch unterschiedliche Oberflächenformen bei gleichem Abstand zwischen der Präparat-Oberfläche und dem Mikrotom-Messer, unterschiedliche Kapazitäten ergeben.

In der US-A-5,282,404 ist zur Referenzierung der relativen Position von Präparat-Oberfläche und Mikrotom-Messer bereits vorgeschlagen worden, das Messer

und das Präparat soweit einander anzunähern, bis eine elektrische Leitfähigkeit zwischen dem Messer und dem Präparat nachweisbar ist. Dieses Mikrotom erfordert jedoch elektrisch leitend beschichtete Präparate. Abgesehen davon, daß hierfür ein zusätzlicher Präparations-schritt erforderlich ist, kann die Beschichtung zu nicht hinnehmbaren Veränderungen oder Schädigungen des Präparates führen.

Es ist das Ziel der Erfindung, ein Kryostat-Mikrotom anzugeben, das die Anschnittstellung automatisch und zuverlässig unabhängig von der Größe und der Form des Präparates bei den für die Kryostat-Mikrotomie in üblicher Weise präparierten biologischen Präparate auffindet.

Dieses Ziel wird durch ein Kryostat-Mikrotom mit den Merkmalen des Anspruches 1 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung ergeben sich aus den Merkmalen der abhängigen Ansprüche.

Beim erfindungsgemäßen Mikrotom wird zwischen dem Mikrotom-Messer und dem Präparat eine elektrische Spannung angelegt und es ist eine elektronische Schaltung vorgesehen, die den bei einem mechanischen Kontakt zwischen dem Mikrotom-Messer und dem Präparat aufgrund der Eigenleitfähigkeit des gefrorenen Präparates auftretenden geänderten Spannungsabfall am Präparat bzw. Strom durch das Präparat detektiert. Bei der Detektion eines vorgegebenen Wertes für den Spannungsabfall wird die Vorschubbewegung von Mikrotom-Messer und Präparat auf einander zu von einer Steuerschaltung selbsttätig gestoppt.

Die vorliegende Erfindung nutzt dementsprechend die Tatsache aus, daß gefrorene biologische Präparate eine Eigenleitfähigkeit aufweisen, die von dem durch die Messerkante auf das Präparat ausgeübten Druck abhängt, und daß eine durch die Änderung der Eigenleitfähigkeit verursachte Änderung des Spannungsabfalls am Präparat hinreichend genau detektierbar ist.

Als besonders zweckmäßig hat es sich erwiesen, eine Steuerschaltung vorzusehen, die die Vorschubbewegung in Abhängigkeit von der jeweiligen Temperatur des Präparates bei unterschiedlichen Werten des Spannungsabfalls am Präparat bzw. Strom durch das Präparat stoppt. Dadurch läßt sich die Temperaturabhängigkeit der Leitfähigkeitsänderung des Präparates über einen derart weiten Bereich kompensieren, daß die Anschnittstellung bei allen üblichen Schnitttemperaturen im Bereich von -10°C bis -50°C mit großer Genauigkeit eingestellt wird. Für die Ermittlung der Präparattemperatur ist im Kryostaten in der Nähe des Präparates ein Temperatursensor vorgesehen.

Vorzugsweise sollte die zwischen dem Mikrotom-Messer und dem Präparat angelegte elektrische Spannung zwischen drei und zwölf Volt betragen, da bei niedrigeren Spannungen aufgrund der starken Temperaturabhängigkeit der Leitfähigkeit des Präparates der Spannungsabfall am Präparat nicht bei allen üblichen Temperaturen mit hinreichender Genauigkeit detektierbar ist und da bei höheren Spannungen als 12 Volt sicherheitstechnische Probleme auftreten und außerdem durch die elektrische Spannung bzw. den elektrischen Strom durch das Präparat auftretende Veränderungen des Präparates zu erwarten sind.

Vorzugsweise stimmt die angelegte elektrische Spannung mit der Versorgungsspannung eines Meßvorverstärkers der elektronischen Schaltung überein. Es ist dann keine zusätzliche Spannungswandlung erforderlich. Der Meßvorverstärker kann als Impedanzwandler, also mit auf den invertierenden Eingang zurückgekopp-

peltem Verstärkerausgang, beschaltet sein. Der nicht-invertierende Eingang des Meßvorverstärkers sollte leitend mit dem Präparat oder mit dem Messer des Mikrotoms und hochohmig über einen Widerstand mit der Spannungsversorgung des Meßvorverstärkers verbunden sein. Der hochohmige Widerstand und das Präparat bilden dann eine Spannungsteilerschaltung und die über das Präparat abfallende Spannung entspricht der Differenz aus der Versorgungsspannung und der über den hochohmigen Widerstand abfallenden Spannung. Der Wert des hochohmigen Widerstandes sollte mindestens 10 Megaohm, vorzugsweise mindestens 22 Megaohm aufweisen, damit auch bei Präparattemperaturen zwischen -30°C und -50°C eine hinreichende Änderung des Spannungsabfalls am Präparat detektierbar ist.

Damit eine elektrische Spannung zwischen dem Mikrotom-Messer und dem Präparat angelegt werden kann, müssen beide Teile gegeneinander isoliert sein. Vorteilhafterweise ist dazu der Objekthalter, der zur Aufnahme eines Präparatstisches dient, an einem elektrisch-isolierenden Isolierkörper am Mikrotom aufgenommen. Dadurch befindet sich die elektrische Isolation an einer Stelle, an der eine Verschmutzung mit Schnittresten, die u. U. einen elektrischen Kurzschluß zwischen dem Präparat und dem Mikrotom-Messer verursachen kann, weitgehend ausgeschlossen ist. Der Isolierkörper sollte dabei aus einer Keramik oder einem glasfaserverstärkten Kunststoff bestehen, um zu verhindern, daß die auftretenden Schnittkräfte zu einer nennenswerten Verformung des Isolierkörpers führen.

Der Meßvorverstärker sollte möglichst nahe am Präparat angeordnet sein, damit die von den Mikrotom-Motoren verursachten elektromagnetischen Streustrahlungen die Messung des Spannungsabfalles nicht verfälschen. Dazu ist es besonders vorteilhaft, den Isolierkörper hohlzylindrisch auszubilden und den Meßvorverstärker einschließlich des hochohmigen Widerstandes und elektronischen Tiefpaßfiltern im Inneren des hohlzylindrischen Isolierkörpers anzuordnen.

Nachfolgend werden Einzelheiten der Erfindung anhand des in den Figuren dargestellten Ausführungsbeispiels näher erläutert. Im einzelnen zeigen:

Fig. 1 einen Schnitt durch ein erfindungsgemäßes Kryostat-Mikrotom in dem das Mikrotom-Messer und den Präparatsträger enthaltenden Bereich;

Fig. 2 einen Schaltplan des im Präparatsträger integrierten Meßverstärkers;

Fig. 3 ein Diagramm des Spannungsabfalls zum Stoppen der Vorschubbewegung als Funktion der Kryostat-Temperatur; und

Fig. 4 ein Ablaufdiagramm der Vorschubsteuerschaltung beim Anschnitt eines Präparates.

Das Kryostat-Mikrotom in der Fig. 1 weist ein an sich bekanntes, thermisch-isoliertes Kryostat-Gehäuse auf, dessen isolierende Außenwand mit (1) bezeichnet ist. An der Frontseite des Kryostaten ist eine Öffnungsklappe (1a) aus einem durchsichtigen Material vorgesehen, so daß das Mikrotom im Innenraum (1b) des Kryostaten zum Wechseln von Präparat oder Messer, sowie zur Reinigung zugänglich ist. Durch einen im Inneren (1b) des Kryostaten vorgesehenen Wärmetauscher (2), der an einen Kompressor (3) außerhalb des Kryostaten angeschlossen ist, kann der Innenraum (1b) des Kryostaten von der Umgebungstemperatur bis hinunter auf -50°C abgekühlt werden. Die übliche Arbeitstemperatur solcher Kryostat-Mikrotome liegt dabei, je nach Konsistenz des Präparates, im Bereich von -100 bis -50°C . Die Temperatur im Innenraum (1b) des Kryostaten wird

mittels eines Temperatursensors (4) kontinuierlich gemessen und die Kühlleistung des Kompressors (3) derart geregelt, daß die mit dem Temperatursensor (4) gemessene Temperatur der vom Benutzer an einer nicht dargestellten Konsole eingestellten Soll-Temperatur entspricht. Für diese Regelung der Kryostat-Temperatur sind der Temperatursensor (4), der Kompressor (3) und ein Steuerungsprozessor (6) über eine Verbindungseinheit (7) miteinander verbunden. Die Verbindungseinheit (7) stellt dabei die Schnittstelle zwischen den einzelnen Geräteteilen dar.

Desweiteren ist im Innenraum (1b) des Kryostaten das eigentliche Mikrotom angeordnet. Es umfaßt eine feste metallische Grundplatte (8), die auf Erdpotential liegt und an der im Frontbereich des Kryostaten ein metallischer Messerhalter (5) mit einem darin aufgenommenen, ebenfalls metallischen Messer (9) angeordnet ist.

Das zu schneidende Präparat (10) ist auf einem Objektisch (11) aufgenommen. Für einen schnellen und einfachen Präparatwechsel weist der Objektisch (11) einen Zylinderbolzen (12) auf, der in einer Gelenkkugel (13) festklemmbar ist. Zum Wechseln des Präparates (10) kann der Objektisch (11) nach Lösen einer nicht dargestellten Klemmschraube aus der Gelenkkugel (13) horizontal nach vorn herausgezogen und gegen einen anderen Objektisch mit einem anderen Präparat ausgetauscht werden.

Die Gelenkkugel (13) dient zur Einstellung der Relativorientierung zwischen Präparat (10) und Mikrotom-Messer (9). Die Gelenkkugel (13) ist dazu in einem Zylinderkopf (14) drehbar aufgenommen, und mittels Klemmbacken (15) ist die eingestellte Position der Gelenkkugel (13) festklemmbar.

Der Zylinderkopf (14) ist durch eine elektrisch-leitende Schraube (16) mit einem zylindrischen Isolierkörper (17) verschraubt. Der Isolierkörper (17) besteht aus einem hochfesten, elektrisch-isolierenden Material, beispielsweise einer Keramik oder einem glasfaserverstärkten Kunststoff.

Der Isolierzylinder (17) ist wiederum zum größten Teil im Inneren eines metallischen Hohlzylinders (18) und dieser Hohlzylinder (18) horizontal beweglich in einer metallischen Zylinderführung (19) aufgenommen. Für die Zustellbewegung zwischen dem Präparat (10) und dem Mikrotom-Messer (9), also um vor dem Anschnitt des Präparates (10) dieses in die Nähe des Mikrotom-Messers (9) zu bringen und um nachfolgend nach jedem Schnitt das Präparat um die voreingestellte Schnittdicke nachzuführen, wird der metallische Hohlzylinder (18) relativ zur Zylinderführung (19) horizontal verschoben. Für diese Zustellbewegung ist ein Schrittmotor (21) mit einer Gewindestange (20) an der Zylinderführung (19) und am Hohlzylinder (18) ein an die Gewindestange (20) angepaßtes Innengewinde vorgesehen. Der Hohlzylinder (18), dessen Innengewinde, die Zylinderführung (19) und die Gewindestange (20) des Schrittmotors (21) sind dazu koaxial zueinander angeordnet.

Für die Ausführung der Schneidbewegung ist die Zylinderführung (19) senkrecht zu ihrer Zylinderachse beweglich an einer Führungsbahn (22) aufgenommen, die selbst wieder fest mit der Grundplatte (8) des Mikrotoms verbunden ist. Zum Ausführen der mikrotomischen Schnitte wird die Zylinderführung (19) in vertikaler Richtung, wie durch den Doppelpfeil angedeutet, bewegt.

Der Isolierkörper (17) weist in einem sich in das Inne-

re des Hohlzylinders (18) erstreckenden Bereich eine Aussparung (17a) auf und ist dementsprechend teilweise hohlzylindrisch ausgebildet. In dieser Aussparung (17a) ist eine Platine (23) mit der in der Fig. 2 dargestellten und weiter unten noch näher beschriebenen Vorverstärkerschaltung angeordnet. Der Eingang der Vorverstärkerschaltung ist an eine ebenfalls in der Ausnehmung (17a) des Isolierkörpers (17) angeordnete, federnde Metallplatte (25) angeschlossen, auf die die Schraube (16) zur Befestigung des Zylinderkopfes (14) drückt. Zwischen dem Kopf der Schraube (16) und dem Bolzen (12) des Objektisches (11) ist desweiteren eine metallische Druckfeder (26) vorgesehen. Auf diese Weise ist der metallische Objektisch (11) elektrisch leitend mit dem Eingang der Vorverstärkerplatine (23) verbunden, wobei durch die metallischen Federn (25, 26) gleichzeitig eine einfache und schnelle Auswechselbarkeit von Objektisch (11) und Zylinderkopf (14) gewährleistet ist. Gleichzeitig ist durch die Anordnung der Vorverstärkerplatine (23) in der Ausnehmung (17a) des Isolierkörpers (17) eine möglichst kurze Leitungsverbindung zwischen dem Präparat (10) und der Vorverstärkerplatine (23) gewährleistet, wodurch das Einsprechen elektrischer Streusignale, beispielsweise vom Schrittmotor (21) oder vom nichtdargestellten Antriebsmotor für die Vertikalbewegung der Zylinderführung (19), insbesondere in den Eingang des Vorverstärkers vermieden wird.

Der Ausgang der Vorverstärkerplatine (23) und die Spannungsversorgung des Vorverstärkers erfolgt durch ein dreiadriges Kabel (27), das durch Öffnungen im Hohlzylinder (18) und in der Zylinderführung (19) herausgeführt und an die Verbindungseinheit (7) angeschlossen ist. Die Ausgangssignale des Vorverstärkers werden an den Steuerungsprozessor (6) weitergegeben. Auf der Platine des Steuerungsprozessors (6) sind die erforderlichen Analog/Digital-Wandler für die gemessenen Signale sowie das Niederspannungsnetzteil für die Vorverstärkerplatine (23) vorgesehen.

Die auf der Vorverstärkerplatine (23) angeordnete Schaltung ist in der Fig. 2 im Detail dargestellt. Sie besteht im wesentlichen aus einem Meßverstärker (28), dessen Ausgang auf den invertierenden Eingang zurückgekoppelt ist und demzufolge einen Impedanzwandler darstellt. Die Versorgungsleitungen des Operationsverstärkers (28) sind mit (27a) und (27b) bezeichnet, wobei die Leitung (27a) auf der positiven Versorgungsspannung von 5 Volt und die Leitung (27b) auf Erdpotential liegt. Zwischen dem Ausgang (27c) des Operationsverstärkers (28) und der Maßeileitung (27b) ist ein erster Kondensator (C1) mit einer Kapazität von 10 μ F geschaltet, der zusammen mit dem Ausgangswiderstand des Meßverstärkers (28) ein Tiefpaßfilter mit einer Grenzfrequenz von ca. 100 Hz bildet. Durch diesen Tiefpaß werden Störsignale, die zwischen dem Operationsverstärker (28) und der Verbindungseinheit (7) in die Ausgangsleitung (27c) einsprechen, gedämpft. Zwischen der Maßeileitung (27b) und dem nicht-invertierenden Eingang des Meßverstärkers (28) ist ein zweiter Kondensator (C2) mit einer Kapazität von 0,33 nF geschaltet, und zwischen der positiven Versorgungsleitung (27a) des Meßverstärkers (28) und dem nichtinvertierenden Eingang ist ein Widerstand (R1) von 22 Megaohm geschaltet. Der zweite Kondensator (C2) bildet mit dem Widerstand (R1) ein Tiefpaßfilter mit einer Grenzfrequenz von 25 Hz. Durch dieses Tiefpaßfilter werden Störungen, die zwischen dem Präparat (10) und dem nicht-invertierenden Eingang des Meßverstärkers (28)

einsprechen, gedämpft.

Der nicht-invertierende Eingang des Meßverstärkers (28) stellt den Eingang der Vorverstärkerschaltung dar und ist leitend an die Metallplatte (24) angeschlossen und damit mit dem Präparat (10) verbunden. Solange das Präparat (10) und das Messer (9) von einander beabstandet sind, und demzufolge keine elektrischleitende Verbindung zwischen dem Präparat (10) und dem auf Erdpotential liegenden Mikrotom-Messer (9) existiert, liegt das Präparat (10) über den Widerstand (R1) auf der Versorgungsspannung U_b des Meßvorverstärkers (28) von + 5 V. Zwischen dem Präparat (10) und dem Mikrotom-Messer (9) liegt demzufolge eine Spannung von 5 V an. Im Falle eines mechanischen Kontaktes zwischen dem Mikrotom-Messer (9) und dem Präparat (10) wird durch den vom Mikrotom-Messer (9) auf das gefrorene Präparat (10) ausgeübten Druck die Eigenleitfähigkeit des Präparates (10) erhöht. Die Ursache dafür ist vermutlich, daß durch den von der spitzen Messerklinge ausgeübten Druck Eiskristalle innerhalb des Präparates (10) schmelzen und dadurch die Leitfähigkeit erhöhen. Der elektrische Widerstand des Präparates ist dabei sowohl von der Probendicke als auch von der Kryostat-Temperatur abhängig. Er beträgt bei -10°C Kryostat-Temperatur je nach Probendicke ca. 7–10 Megaohm und bei -50°C ca. 200 Megaohm. Dieser Widerstand des Präparates und der Widerstand (R1) der Vorverstärkerschaltung bilden eine Spannungsteilerschaltung. Die am nicht-invertierenden Eingang des Meßverstärkers (28) anliegende Spannung ist demzufolge um so niedriger, je höher die Eigenleitfähigkeit des Präparates (10) ist. Dieses Abfallen der Spannung am nicht-invertierenden Eingang des Meßverstärkers (28) erzeugt eine nahezu identische, stromverstärkte Spannungsänderung am Verstärkerausgang (27c), die beim Erreichen einer vordefinierten Schwellspannung (U_s) vom Steuerungsprozessor (6) detektiert wird. Darauf folgend wird vom Steuerungsprozessor (6) der Schrittmotor (21) und damit der Präparatvorschub gestoppt.

Da die Eigenleitfähigkeit des Präparates stark temperaturabhängig ist, wird die Vorschubbewegung in Abhängigkeit von der mit dem Temperatursensor (4) gemessenen Temperatur bei unterschiedlichen Schwellspannungen (U_s) am Ausgang des Vorverstärkers gestoppt. Diese Temperaturabhängigkeit der Schwellspannung (U_s) ist in der Fig. 3 dargestellt. Sie hat bei einem Widerstand (R1) von 22 Megaohm zwischen -10°C und -40°C einen linearen Verlauf und hat bei -10°C einen Wert von 12,5% und bei -40°C einen Wert von 94% der bei fehlendem Kontakt zwischen Präparat und Mikrotom-Messer auftretenden Ausgangsspannung des Verstärkers, die im wesentlichen der Versorgungsspannung (U_b) entspricht. Bei Temperaturen unter -40°C bleibt die Schwellspannung (U_s) konstant bei 94% dieser Ausgangsspannung. Bei Temperaturen zwischen -10°C und -40°C wird die Abhängigkeit der Schwellspannung von der Temperatur vom Steuerungsprozessor (6) nach der Formel $U_s = a \cdot (T - T_0) + b$ anhand des aktuellen Wertes der Temperatur berechnet. Dabei ist T der Betrag der Temperatur und T_0 die maximal zulässige Temperatur von -10°C und der Faktor a beträgt 0,12 V/ $^\circ\text{C}$. Der Koeffizient b entspricht 1/8 der bei fehlendem Kontakt zwischen Präparat und Mikrotom-Messer auftretenden Ausgangsspannung des Verstärkers. Der jeweilige Wert der Schwellspannung (U_s) wird vom Prozessor je nach Kryostat-Temperatur zur Detektion des Kontaktes zwischen Präparat und Mikrotom-Messer angewendet, wobei bei Temperatur-

ren zwischen -40°C und -50°C der zu -40°C zugehörige Wert für die Schwellspannung verwendet wird.

Die beim erfindungsgemäßen Mikrotom automatisch ablaufenden Funktionsschritte sind in der Fig. 4 als Blockdiagramm dargestellt. Betätigt der Operateur nach Einsetzen eines neuen oder anderen Präparates eine Taste (29) für die automatische Präparatannäherung auf der nicht dargestellten Eingabekonsolle, so wird vom Steuerungsprozessor (6) in einem Schritt (30) zunächst abgefragt, ob der Objektstisch sich auf der Höhe des Mikrotom-Messers befindet. Ist dieses nicht der Fall, so wird bei einem Mikrotom mit manuellem Antrieb der Schneidbewegung die Routine durch Erreichen des Schrittes (45) verlassen. Bei einem Mikrotom mit motorischem Antrieb der Schneidbewegung wird der Objektstisch automatisch auf die Höhe des Mikrotom-Messers eingestellt.

Nachdem der Objektstisch die Höhe des Mikrotom-Messers erreicht hat wird in einem Schritt (31) überprüft, ob die mit dem Temperatursensor (4) gemessene Kryostat-Temperatur im zulässigen Bereich zwischen -10°C und -50°C liegt. Ist dieses nicht der Fall, wird in einem Schritt (31a) eine Fehlermeldung erzeugt und auf einem nicht dargestellten Display angezeigt. Liegt die Temperatur im zulässigen Bereich, wird in einem nachfolgenden Schritt (32) überprüft, ob die Ausgangsspannung des Vorverstärkers mindestens 96% der Versorgungsspannung (U_b) beträgt. Ist diese Bedingung erfüllt, wird in einem Schritt (32a) eine Fehlermeldung generiert, die dem Benutzer einen bereits bestehenden Kontakt zwischen Präparat und Mikrotom-Messer anzeigt. Beträgt die Ausgangsspannung des Vorverstärkers weniger als 96% der Versorgungsspannung, so wird in einem Schritt (33) die aktuelle Ausgangsspannung gemessen und in einem Schritt (34) die Schwellspannung (U_s) nach der obigen Gleichung anhand der aktuellen Ausgangsspannung und dem aktuellen Temperaturwert berechnet. Darauf folgend wird in einem Schritt (35) der Schrittmotor (21) für den Probenvorschub gestartet und das Präparat auf das Mikrotom-Messer hinzu bewegt (Horizontalbewegung). Während der Präparatbewegung wird ständig in einem Schritt (36) die Ausgangsspannung des Vorverstärkers (28) gemessen und in einem Schritt (37) überprüft, ob die Ausgangsspannung bereits kleiner als die berechnete Schwellspannung (U_s) ist. Ist die Schwellspannung kleiner als die Ausgangsspannung, so wird in einer Abfrage (43) überprüft, ob der Benutzer durch Betätigung einer entsprechenden Taste den Befehl zu einem Abbruch der automatischen Präparatannäherung eingegeben hat. Ist dieses der Fall wird der Schrittmotor (21) in einem Schritt (44) gestoppt und im Funktionsschritt (45) die Routine verlassen; andernfalls wird die Bewegung des Schrittmotors (21) fortgesetzt, bis die Ausgangsspannung des Vorverstärkers (28) kleiner als die Schwellspannung (U_s) ist und durch Erreichen des Funktionsschrittes (38) der Schrittmotor gestoppt wird. Darauf folgend wird in einem Funktionsschritt (39) der Schrittmotor (21) umgekehrt angesteuert und das Präparat um $200\text{ }\mu\text{m}$ vom Mikrotom-Messer entfernt. In einer nachfolgenden Abfrageschleife (40) wird geprüft, ob der Objektstisch sich in der obersten Stellung befindet. Ist dieses nicht der Fall, wird im Schritt (42) geprüft, ob der Benutzer einen Abbruchbefehl gegeben hat. Ist auch dieses nicht der Fall, werden die Abfragen (40, 42) erneut solange gestellt, bis eine der Abfragen mit ja beantwortet wird. Für die Detektion des obersten Stellung des Ob-

jektstisches sind in bekannter Weise nicht dargestellte Lichtschranken vorgesehen.

Befindet sich der Objektstisch bei der Abfrage (40) in der obersten Stellung, so wird in einem abschließenden Schritt (41) die Bewegung des Schrittmotors (21) erneut umgekehrt und das Präparat wieder um betragsmäßig die selbe Strecke wie im Schritt (39) — also um $200\text{ }\mu\text{m}$ — auf das Mikrotom-Messer hinzu bewegt und nachfolgend durch Erreichen des Funktionsschrittes (45) die Routine verlassen. Danach kann das Anschneiden des Präparates begonnen und das Präparat in üblicher Weise geschnitten werden.

Durch das von einander Entfernen von Präparat und Messer im Schritt (39) wird sicher gestellt, daß beim Zurückfahren des Objektstisches in dessen oberste Stellung Präparat und Messer von einander beabstandet sind und keine Beschädigungen des Präparates auftreten. Das Zurückfahren des Objektstisches in dessen oberste Stellung kann bei einem Mikrotom mit motorischem Antrieb der Schneidbewegung wiederum selbsttätig erfolgen.

Beim beschriebenen Ausführungsbeispiel wird die Schwellspannung (U_s) immer wieder erneut anhand der bei fehlendem Kontakt zwischen Präparat und Mikrotom-Messer vorliegenden Ausgangsspannung des Vorverstärkers berechnet. Alternativ könnte auch eine Datentabelle der zur jeweiligen Temperatur zugehörigen Schwellspannungen in einem Speicher abgelegt sein. Statt einer Berechnung der Schwellspannungen wäre dann lediglich der zur aktuellen Temperatur zugehörige Wert aus der Tabelle auszuwählen. Dieses hätte jedoch gegenüber dem beschriebenen Ausführungsbeispiel den Nachteil, daß entweder die Vorverstärker derart zu selektieren wären, daß stets in engen Grenzen die selbe Ausgangsspannung bei fehlendem Kontakt zwischen Messer und Präparat vorliegt, oder daß für die Steuerung eines jeden individuellen Gerätes eine individuelle Datentabelle zu ermitteln wäre. Im Gegensatz dazu können die Ausgangsspannungen der Vorverstärker beim beschriebenen Ausführungsbeispiel innerhalb der Serie um 4–5% variieren und es kann dennoch stets derselbe, oben angegebene Wert für den Funktionskoeffizienten a angewendet werden.

Beim in den Figuren dargestellten Ausführungsbeispiel ist die Vorverstärkerplatine präparatseitig angeordnet. Selbstverständlich ist es auch möglich, den Messerhalter gegenüber der Basisplatte des Mikrotoms zu isolieren und die Vorverstärkerplatine in dieser Isolierung in der Nähe des Messerhalters anzuordnen, wobei dann der Messerhalter an den Verstärkereingang anzuschließen ist. Allerdings ist bei dieser Alternative die Isolierung einer stärkeren Verschmutzung durch Schnittreste ausgesetzt, wodurch ein Kurzschluß zwischen dem Messer und dem Präparat und dadurch ein vorzeitiges Stoppen der Zustellbewegung resultieren kann.

Patentansprüche

1. Kryostat-Mikrotom zum Schneiden gefrorener Präparate (10) mit einer Steuerschaltung (6, 37, 38), die eine Vorschubbewegung von Mikrotom-Messer (9) und Präparat (10) auf einander zu bei mechanischem Kontakt zwischen Mikrotom-Messer (9) und Präparat (10) selbsttätig stoppt, wobei zwischen dem Messer (9) und dem Präparat (10) eine elektrische Spannung angelegt ist und zum Stoppen der Vorschubbewegung eine elektronische

Schaltung (6, 23, 28) vorgesehen ist, die den aufgrund der Eigenleitfähigkeit des Präparates (10) beim mechanischen Kontakt zwischen dem Mikrotom-Messer (9) und dem Präparat (10) auftretenden geänderten Spannungsabfall am Präparat bzw. Strom durch das Präparat (10) detektiert. 5

2. Kryostat-Mikrotom nach Anspruch 1, wobei im Kryostaten ein Temperatursensor (4) vorgesehen ist, die Steuerschaltung (6, 37, 38) die Vorschubbewegung beim Erreichen eines vorgegebenen Wertes (U_s) für den Spannungsabfall am Präparat bzw. Strom durch das Präparat stoppt und wobei der vorgegebene Wert (U_s) in Abhängigkeit von der Kryostat-Temperatur unterschiedlich ist. 10

3. Kryostat-Mikrotom nach Anspruch 1 oder 2, wobei die elektrische Spannung höchstens 12 Volt beträgt. 15

4. Kryostat-Mikrotom nach einem der Ansprüche 1—3, wobei die elektronische Schaltung einen Meßvorverstärker (28) enthält und die angelegte elektrische Spannung der Versorgungsspannung (U_b) des Meßvorverstärkers (28) entspricht. 20

5. Kryostat-Mikrotom nach Anspruch 4, wobei der Meßvorverstärker als Impedanzwandler beschaltet ist. 25

6. Kryostat-Mikrotom nach Anspruch 4 oder 5, wobei der eine Eingang des Meßvorverstärkers (28) elektrisch leitend mit dem Präparat (10) oder dem Mikrotom-Messer (9) und hochohmig über einen elektrischen Widerstand (R_1) an die Spannungsversorgung des Meßvorverstärkers (28) angeschlossen ist. 30

7. Kryostat-Mikrotom nach Anspruch 6, wobei der hochohmige Widerstand einen Widerstand von mindestens 10 Megaohm, vorzugsweise von 22 Megaohm aufweist. 35

8. Kryostat-Mikrotom nach einem der Ansprüche 1-7, wobei ein Objekthalter (13, 15, 16) zur Aufnahme eines Objekttisches (11) an einem elektrisch isolierenden Isolierkörper (17) aufgenommen ist. 40

9. Kryostat-Mikrotom nach Anspruch 8, wobei der Isolierkörper (17) eine Ausnehmung (17a) aufweist und der Meßvorverstärker (28) in der Ausnehmung (17a) des Isolierkörpers (17) angeordnet ist. 45

10. Kryostat-Mikrotom nach Anspruch 8 oder 9, wobei der Isolierkörper (17) aus einer Keramik oder aus einem glasfaserverstärkten Kunststoff besteht. 50

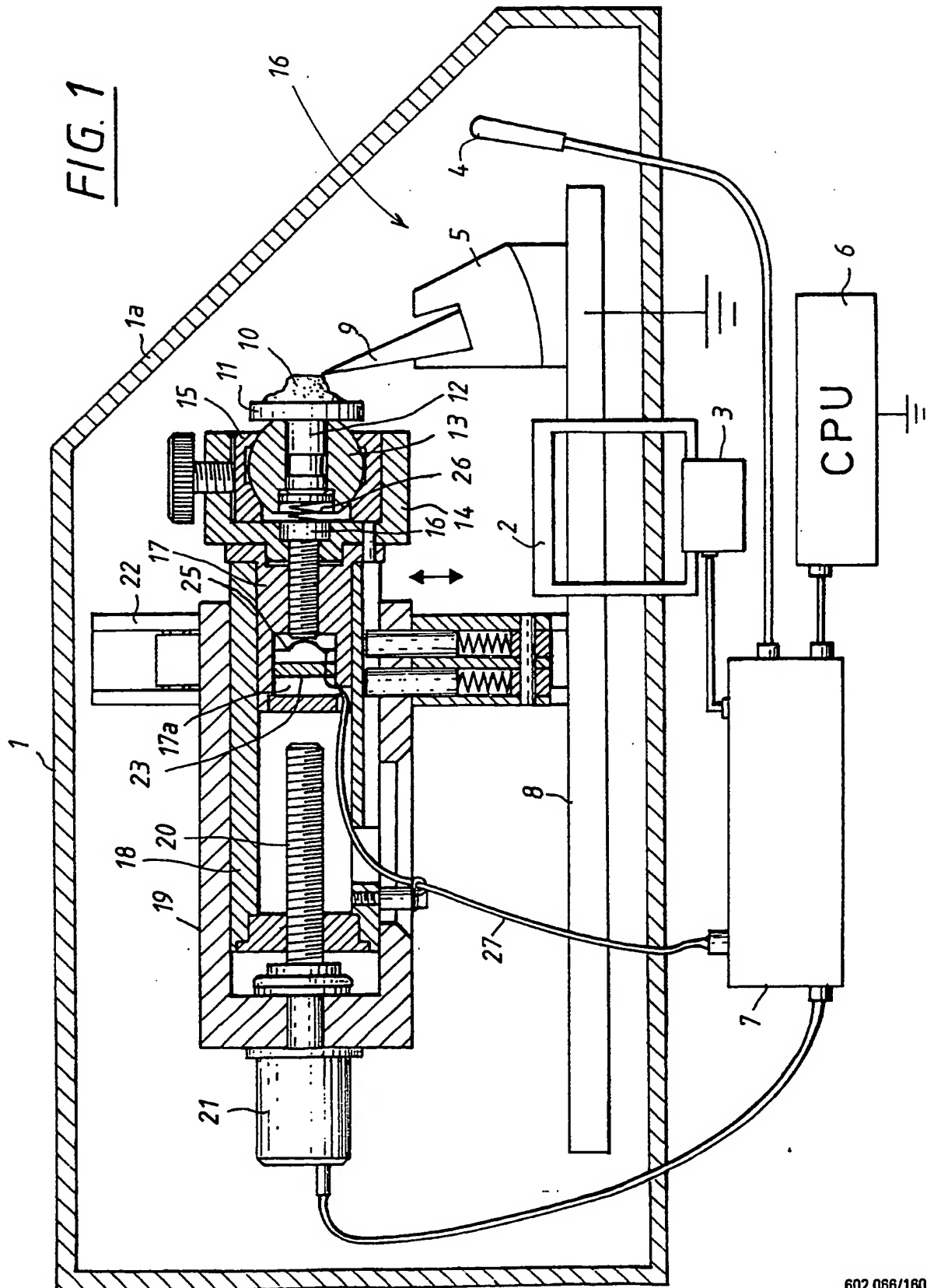
11. Kryostat-Mikrotom nach einem der Ansprüche 1-10, wobei eine Steuerschaltung (6, 39, 41) vorgesehen ist, durch die selbsttätig nach dem Stoppen der Vorschubbewegung die Bewegung zwischen dem Präparat (10) und dem Mikrotom-Messer (9) umgekehrt wird und Präparat (10) und Mikrotom — Messer (9) um eine voreingestellte Wegstrecke von einander entfernt werden und nach Erreichen der obersten Stellung des Präparates (10) Mikrotom-Messer (9) und Präparat (10) um die voreingestellte Wegstrecke wieder auf einander zu bewegt werden. 55

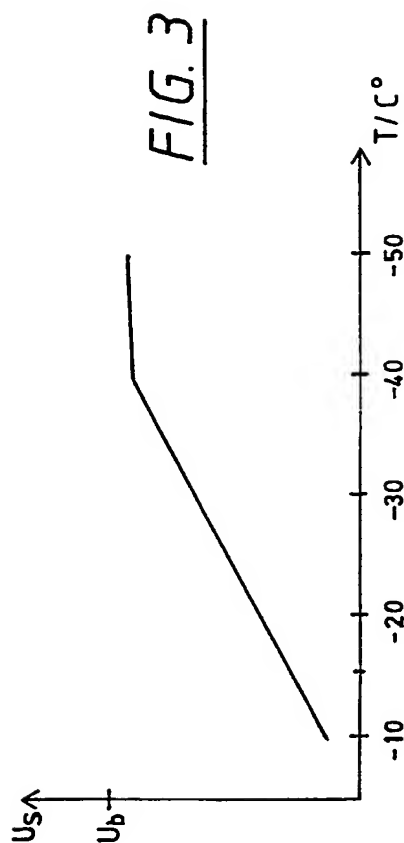
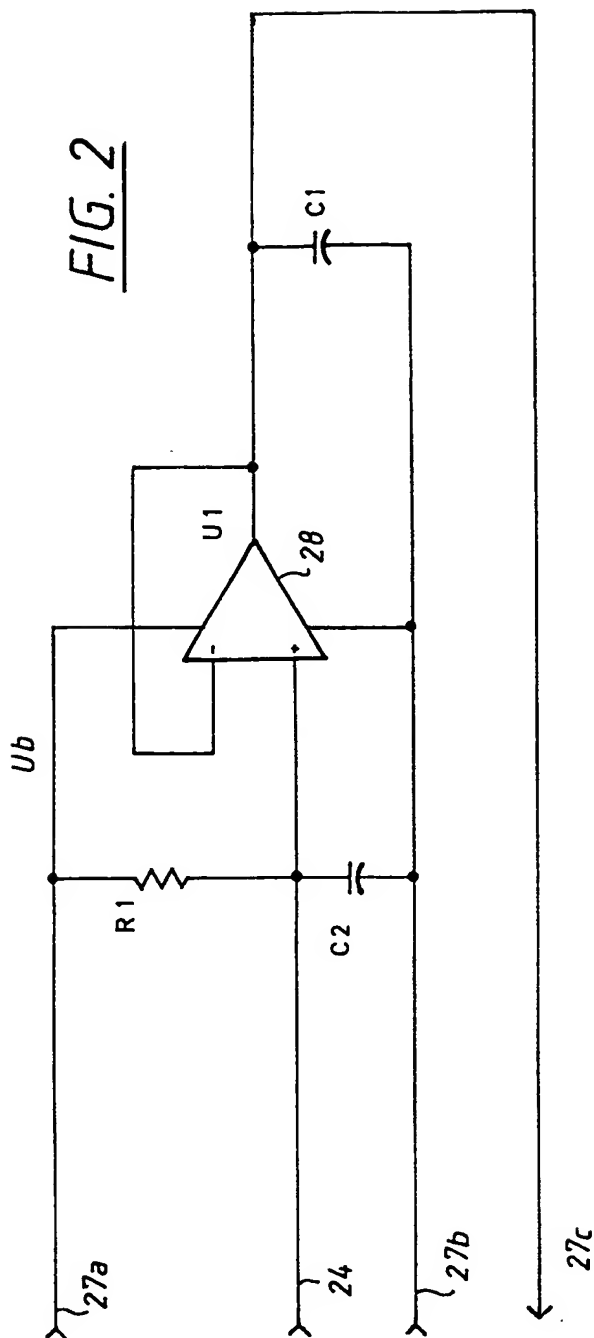
12. Kryostat-Mikrotom nach einem der Ansprüche 2-11, wobei die Steuerschaltung (6) ein Programm (29—45) enthält und die vorgegebene Spannung (U_s) beim Ablauf des Programmes (29—45) anhand von Funktionskoeffizienten berechnet wird. 60

13. Verfahren zum Betrieb eines Kryostat-Mikrotoms, bei dem eine Vorschubbewegung von Mikrotom-Messer (9) und gefrorenem Präparat (10) auf

einander zu bei mechanischem Kontakt zwischen Mikrotom-Messer (9) und Präparat (10) selbsttätig gestoppt wird, wobei zwischen dem Präparat (10) und dem Mikrotom-Messer (9) eine elektrische Spannung angelegt wird und zum Stoppen der Vorschubbewegung ein aufgrund der Eigenleitfähigkeit des gefrorenen Präparates (10) auftretender Strom durch das Präparat bzw. Spannungsabfall am Präparat detektiert wird.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen





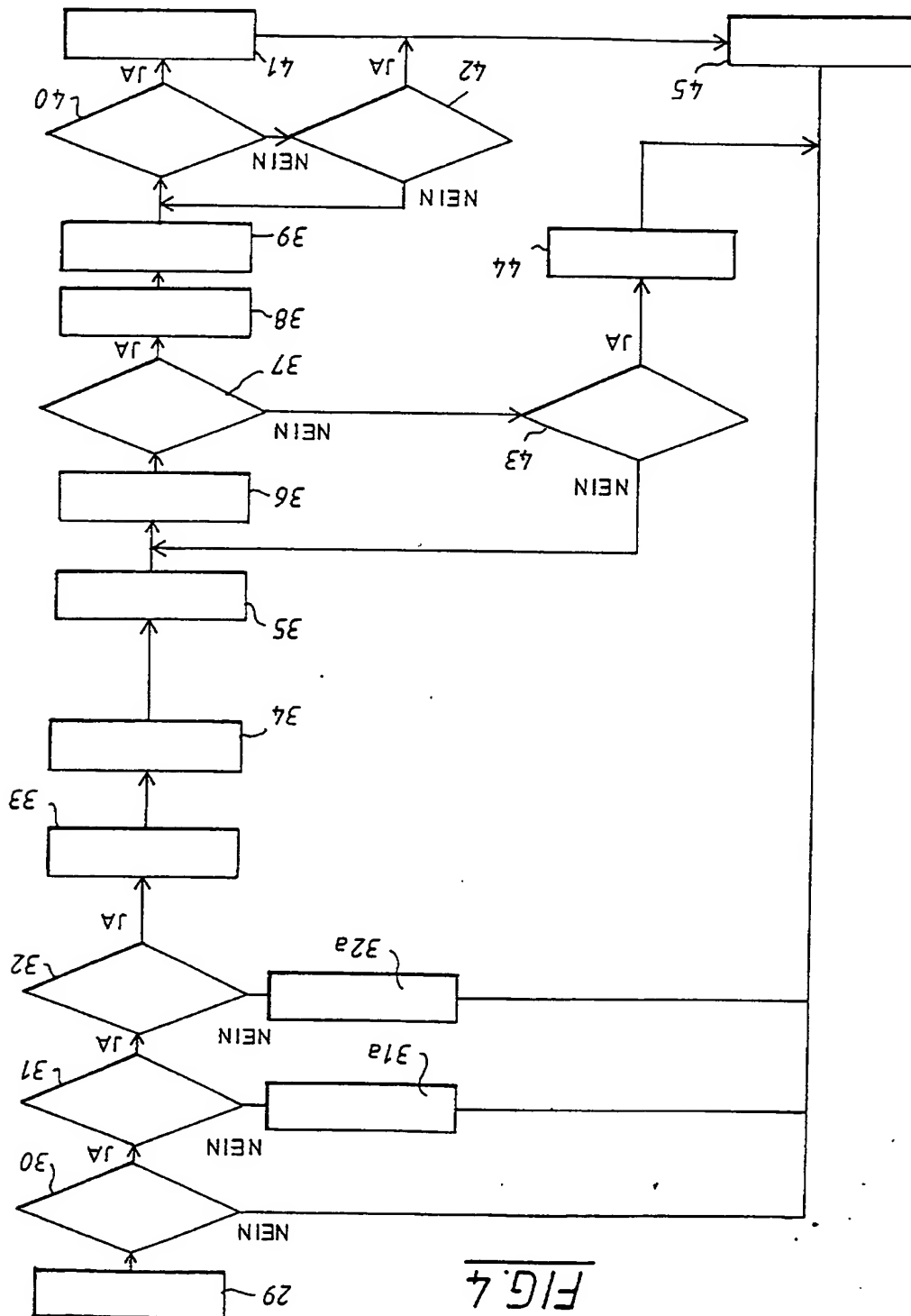


FIG. 4